

豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物的制备及其提升低钠植物肉风味及储藏稳定性的研究

谢宇希¹, 宋雪盈¹, 赵谋明^{1,2}, 吴军², 罗东辉³, 罗燕华², 梁春虹³, 张佳男^{1*}, 苏国万^{1,2*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(2. 广东天企生物科技有限公司, 广东佛山 528000) (3. 广州市肽汇生物科技有限公司, 广东广州 511458)

摘要: 该文探究了豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物 (Maillard Reaction Products Derived From Pea Protein Enzymatic Hydrolysate, PPIHM) 对低钠植物肉品质的影响。以豌豆蛋白为原料, 通过蛋白酶水解结合谷氨酰胺转氨酶 (Glutamine Transaminase, TG 酶) 交联, 添加质量分数为 3.0% 谷胱甘肽和 1.0% 还原糖 (木糖:核糖=1:3) 进行美拉德反应制备 PPIHM, 并证明 PPIHM 的良好烤肉香气, 鲜味及抗氧化能力。进一步添加不同质量分数 (1%, 3%, 5%) 的 PPIHM 于低钠植物肉中, 系统研究发现添加 PPIHM 在保持植物肉自身刚性和稳定性的前提下, 能显著提升植物肉的肉香感知强度, 延缓植物肉中油脂和蛋白的氧化。其中, 感官品评人员对 3% PPIHM 植物肉组的喜好度和接受度最高, 5% PPIHM 植物肉组抗氧化和贮藏稳定性效果最好, 在第 12 天时, POV 值仅为 0.009 7 g/100 g。研究结果表明添加 PPIHM 是改善低钠植物肉风味, 提高其储藏性能的一种有效途径。该研究为深入探究 PPIHM 作为天然反应型风味补偿剂在低钠植物肉中的应用提供了理论基础和方法指导。

关键词: 豌豆蛋白; 美拉德反应; 植物肉; 风味特性; 储藏稳定性

文章编号: 1673-9078(2024)01-183-193

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.1.1548

Preparation of Maillard Reaction Products Derived from Pea Protein Enzymatic Hydrolysate and Improvement of the Flavor and Storage Stability of Low-sodium Plant-based Meat

XIE Yuxi¹, SONG Xueying¹, ZHAO Mouming^{1,2}, WU Jun², LUO Donghui³, LUO Yanhua²,

LIANG Chunhong³, ZHANG Jianan^{1*}, SU Guowan^{1,2*}

(1. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Guangdong Tanchi Biotechnology Co. Ltd., Foshan 528000, China)

(3. Guangzhou Taihui Biotechnology Co. Ltd., Guangzhou 511458, China)

引文格式:

谢宇希, 宋雪盈, 赵谋明, 等. 豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物的制备及其提升低钠植物肉风味及储藏稳定性的研究[J]. 现代食品科技, 2024, 40(1): 183-193.

XIE Yuxi, SONG Xueying, ZHAO Mouming, et al. Preparation of maillard reaction products derived from pea protein enzymatic hydrolysate and improvement of the flavor and storage stability of low-sodium plant-based meat [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(1): 183-193.

收稿日期: 2022-12-07

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32172329); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2022A1515010060); 佛山市科技创新团队项目 (2018IT100272)

作者简介: 谢宇希 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 201921026118@mail.scut.edu.cn

通讯作者: 张佳男 (1991-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: fez.jianan@mail.scut.edu.cn; 共同通讯作者: 苏国万 (1981-), 男, 博士, 教授级高级工程师, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: fegwsu@scut.edu.cn

Abstract: The effect of Maillard reaction products derived from pea protein enzymatic hydrolysate (PPIHM) on the quality of low-sodium plant-based meat was explored. Pea protein was used as the raw material, and was pretreated by protease hydrolysis combined with transglutaminase cross-linking, followed by the addition of 3.0% glutathione and 1.0% reducing sugar (xylose:ribose = 1:3) to the pea protein enzymatic hydrolysate for the Maillard reaction to prepare PPIHM. PPIHM showed good roasted aroma, umami and antioxidant capacity. Different mass fractions (1%, 3%, and 5%) of PPIHM were then added to low-sodium plant-based meat. Systematic investigation revealed that PPIHM could significantly improve the perceived meat aroma and delay the oil and protein oxidation of plant-based meat, while also maintaining its rigidity and stability. The sensory evaluators showed the highest preference and acceptance for the 3% PPIHM plant-based meat group, while the 5% PPIHM plant-based meat group had the best antioxidant capacity and storage stability, with a peroxide value of only 0.0097 g/100 g on the 12th day of storage. These results demonstrate that adding PPIHM is an effective means to improve the flavor and storage performance of low-sodium plant-based meat. Our findings can serve as a theoretical basis and method guidance for further exploring the application of PPIHM as a natural reactive meat flavor in low-sodium plant-based meat.

Key words: pea protein; Maillard reaction; plant-based meat; flavor characteristics; storage stability

我国《“2030 健康中国”规划纲要》提出进一步推动优化膳食结构和健康饮食的进程。动物肉类工业不可避免会对环境造成负面影响，人口不断增长所导致肉类需求的大量增加会给全球生态系统带来巨大压力^[1]；此外，动物肉制品相对较高的胆固醇和脂肪（饱和脂肪酸）含量，以及各种肉制品导致的高摄盐量，致使长期过量食用动物肉制品存在患高血压、心脏病、高血脂症等心脑血管疾病风险，这与人们对健康饮食的需求相背^[2]。为实现我国肉类工业的可持续发展，并满足人们对健康食品的追求，研究人员对动物肉制品替代物方面不断探索，而动物肉制品替代物也将成为消费者的健康新选择。

目前，以大豆、小麦、豌豆等植物蛋白为主要原料，通过不同工艺技术制备的具有类似动物肉质地植物肉具有零胆固醇、零抗生素、低脂肪和高蛋白等优点，可成为动物肉制品的重要补充或替代物^[3]。然而，植物肉风味欠佳的问题严重阻碍了公众接受并将其纳入日常饮食。研究发现通过添加特定风味料能够使植物肉整体味感协调，从而缩小其与动物肉制品的风味差距^[4]。呈味基料是以动、植物或微生物蛋白为原料，通过水解作用最大限度释放其中呈味物质（氨基酸、核苷酸、小分子肽等），并利用美拉德反应生香提味，制备得到的一类天然调味料^[5]。有学者研究发现，蛋白水解物经美拉德反应处理可呈现出不同风味特征，并且对于丰富食品风味及补偿食品加工过程中损失的风味具有积极

作用^[6]。Sun 等^[7]发现谷胱甘肽与木糖通过加热反应（90 °C，60 min）能制备出兼具优良肉味和肉感的美拉德反应产物。Eric 等^[8]以葵花籽蛋白酶解物与木糖为原料制得的美拉德反应产物（55 °C，4 h）具有良好的肉香、鲜味以及滋味绵延感。Cai 等^[9]研究发现虾渣酶解液和木糖的美拉德反应产物（pH 值 6.0，55 °C，4 h）虾肉香浓郁且鲜味突出。另外，针对摄入高盐不利健康的问题，有研究表明在不影响食品滋味的前提下，向食品中添加呈味基料能有效降低食用盐的添加量^[10,11]。

豌豆是仅次于大豆的第二大食用豆类，是一种高质量、可持续的植物蛋白资源，其氨基酸组成相对平衡，并含有质量分数 25% 以上的鲜味氨基酸（天冬氨酸和谷氨酸），是制备呈味基料的潜在优质蛋白原料^[12,13]。本文以豌豆蛋白为原料制备豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物，并将其应用于植物肉中，从风味特性、结构特性和储藏稳定性的角度考察其对植物肉品质的影响，以期天然反应型风味补偿剂在植物肉中应用提供方法和理论的指导。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

豌豆分离蛋白购于加拿大 ETG 商品公司（ETG Commodities Inc.），风味蛋白酶（Flavourzyme 500 MG）和蛋白酶 11039 购置于丹麦诺维信公司。变性淀粉由广东天企生物科技有限公司提供。

无水乙醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、铁氰化

钾、氯化铁、硫代硫酸钠、碳酸钠、三氯甲烷、冰乙酸、碘化钾、石油醚、三氯乙酸、乙二胺乙酸二钠、乙酸乙酯、磷酸二氢钾、乙二胺四乙酸、脲购自上海国药集团化学试剂有限公司；2,4-二硝基苯肼，盐酸胍购买自上海麦克林生化科技有限公司；FL、AAPH、Trolox、DPPH 硫代巴比妥酸、1,1,3,3-四甲氧基丙烷、牛血清蛋白、三羟甲基氨基甲烷、甘氨酸购自美国 Sigma-Aldrich 公司。所有试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

L5 紫外可见分光光度计，上海仪电（集团）有限公司；Varioskan Flash 全波长扫描多功能读数仪，德国 Thermo Electron 公司；Mastersizer 2000 粒度仪，德国 Thermo Electron 公司；Haake MARS III 流变仪，美国 TA 公司；TA-xT2i 质构分析仪，美国 Hunter Lab 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物的制备

将豌豆分离蛋白与去离子水按照 1:8 (*m/m*) 的比例混合，室温下搅拌均匀，调节 pH 值至 6.50，添加总蛋白质量分数 0.80% 的蛋白酶（15.02 U/g 风味酶:147.42 U/g 蛋白酶 11 039=3:1），在 50 °C 下保温酶解 14 h，经沸水浴加热 15 min 灭酶后，冷却离心（4 °C，8 000 r/min，15 min），取上清得到豌豆蛋白酶解产物；然后往豌豆蛋白酶解产物中按照的蛋白质量分数 0.05% 的 80.30 U/g 谷氨酰胺转氨酶（Glutamine Transaminase, TG 酶），于水浴恒温振荡器（50 °C，10 h）中保温，再次灭酶（沸水，15 min），离心（4 °C，8 000 r/min，15 min），取上清液并添加其蛋白质量分数 3.0% 谷胱甘肽和 1.0% 还原糖（木糖:核糖=1:3），pH 值调至 6.50，110 °C 下反应 90 min，反应结束后快速冷却得到豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物（PPIHM）。

1.3.2 植物肉的制备

按照表一将配料（质量分数 1.0% 食盐、鲜味剂（谷氨酸钠或呈味核苷酸二钠）、质量分数 2.5% 菜籽油、豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物）溶于水中，加入质量分数 25% (*m/m*) 豌豆分离蛋白搅拌均匀，将物料置于保鲜盒中于 4 °C 条件下放置 30 min，将物料斩拌 30 min 后放入模型中定型并密封，蒸熟后

制得植物肉。

1.3.3 豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物的感官品评分析

感官品评小组由 14 位（男性 5 位，女性 9 位）、年龄在 20~30 岁之间的感官品评人员组成（均来自华南理工大学食品科学与工程学院）。在品评之前按照选拔、培训与管理评价员一般导则（GB/T 16291.1-2012）^[14]对感官品评人员进行感官培训，进而对豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物进行感官品评。感官品评在温度为（25±2）°C 的感官评价室进行。用质量分数 0.2% 的食盐溶液作为溶剂将样品稀释到 2% 固形物，pH 值调节至 6.50，感官品评人员品尝不同样品之间需休息 3 min，进行描述性感官试验并打分，从 1 分到 5 分感官强度逐渐增加^[15]。

1.3.4 豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物抗氧化能力测定

1.3.4.1 氧自由基吸收能力的测定

参考 Davalos 等^[16]和 Zheng 等^[17]的方法对样品进行测定。简单地说，将 20 μL 样品溶液和 120 μL Fluorescein 于黑色 96 微孔板中 37 °C 保温 15 min，加入 60 μL AAPH 溶液，震荡 30 s，测定其荧光强度（激光波长 485 nm，发射波长 520 nm），根据样品的荧光衰退曲线的保护面积和标准品的荧光衰退曲线的保护面积之比计算样品的 ORAC 值，结果表示为 μmol/g（以 Trolox 为标准品计）。磷酸缓冲液（pH 值 7.4，75 mmol/L）代替样品为空白对照。

1.3.4.2 DPPH 自由基清除能力的测定

参考 Brand-Williams 等^[18]的方法进行改进。将等体积的 DPPH·乙醇（0.2 mmol/L）溶液与样品混合，再用涡旋仪充分混匀，室温避光放置 30 min 后，于吸光度 517 nm 处测定吸光值。样品对 DPPH·的清除率用抑制率 R 表示：

$$R = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中：

R——抑制率，%；

A_1 ——等体积 DPPH·乙醇和样品混合溶液的吸光值；

A_2 ——等体积的乙醇和样品混合溶液的吸光值；

A_0 ——DPPH·乙醇和超纯水混合溶液的吸光值。

1.3.5 豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物还原力的测定

将等体积的样品、PBS（0.2 mol/L，pH 值 6.6）溶液和铁氰化钾溶液（1%，*m/V*）混合，于 50 °C

下保温 20 min, 然后加入与样品等体积质量分数为 10% (m/V) 三氯乙酸溶液混合, 离心 (3 000 r/min) 10 min, 取 2 mL 上清液、2 mL 超纯水和 0.4 mL 0.1% (m/V) 氯化铁混匀, 于反应试管中避光反应 10 min, 反应结束后于吸光度 700 nm 处测量吸光值^[19]。去离子水代替样液作为空白。

1.3.6 植物肉的感官品评分析

对不同配料植物肉的钠离子含量 (质量分数) 进行评估, 并采用接受性检验的方法对不同配料植

物肉的肉味、鲜味、咸味进行评分, 1 分为太淡, 3 分为正好, 5 分为太浓, 然后从喜好度、接受度和肉感逼真度等角度对植物肉进行评分, 评分越高表示感官品评人员对样品的接受性越强。感官品评在温度为 (25±2) °C 的感官评价室进行, 感官品评人员品尝不同样品之间需休息 3 min, 品尝结束后对样品进行打分。

感官品评样品组别设置和各组的钠离子含量如表 1。

表 1 感官品评样品

Table 1 The grouping of sensory evaluation samples

组别	配料质量分数/%				植物肉的钠含量 (mg/100 g 产品)
	食盐	菜籽油	鲜味剂	PPIHM	
对照组	1.0	2.5	-	-	397.44
低钠样品组 -1	0.2	2.5	-	-	82.91
a 组 低钠样品组 -2	0.2	2.5	0.05 MSG	1	82.91
低钠样品组 -3	0.2	2.5	0.05 MSG	3	82.91
低钠样品组 -4	0.2	2.5	0.05 MSG	5	82.91
对照组	1.0	2.5	-	-	394.74
低钠样品组 -1	0.2	2.5	-	-	79.21
b 组 低钠样品组 -2	0.2	2.5	0.01 I+G	1	79.21
低钠样品组 -3	0.2	2.5	0.01 I+G	3	79.21
低钠样品组 -4	0.2	2.5	0.01 I+G	5	79.21

注: 钠含量为食盐和鲜味剂的钠含量之和。

1.3.7 植物肉的结构特性测定方法

1.3.7.1 凝胶特性的测定方法

采用 TA-XT 2 质构分析仪, 测试模式为应变模式, 选择 P/36 探头 (直径 36 mm)。测试前、测试中及测试后探头速度分别为 2.0 mm/s, 1.0 mm/s 和 5.0 mm/s。测试应变为 30%, 触发力为 Auto-50 g, 数据获取速度为 200 pps。通过测定应变随时间变化的曲线, 得到样品的硬度、弹性和咀嚼性。

1.3.7.2 咀嚼特性的测定方法

采用 TA-XT 2 质构分析仪的 MEC 咀嚼装置对植物肉进行模拟口腔咀嚼, 样品在装置中进行 50 个周期的双向挤压循环, 并记录每一个单向挤压所做的功。每次挤压所做的功根据下式进行计算。

$$W_{(n)} = W_{inf} + w_1 \times EXP(-n/n_1) \quad (2)$$

式中:

$W_{(n)}$ ——第 n 次挤压所做的功能量损失, J;

W_{inf} ——多次 (无限) 挤压后的再一次挤压所做的功, J;

w_1 ——每次挤压的能量损失, J;

n_1 —— w_1 的衰减率。

1.3.7.3 流变特性的测定方法

参考邝婉涓^[20]的方法。

1.3.8 植物肉抗氧化活性的测定方法

测定方法同 1.3.4。

1.3.9 植物肉氧化程度的测定方法

将植物肉储藏于保鲜盒中, 于 4 °C 条件下储藏 12 d, 分别在 0、1、3、6、9 和 12 d 取样并测定其过氧化值 (Peroxide Value, POV)、巯基含量 (游离巯基含量和总巯基含量) 和总巯基含量, 以未添加抗氧化剂的植物肉为空白对照组, 以分别添加质量分数 1%、3% 和 5% PPIHM 的植物肉为样品组。

1.3.9.1 过氧化值的测定方法

根据 GB 5009.227-2016《食品中过氧化值的测定方法》对其过氧化值进行测定^[21]。

1.3.9.2 巯基含量的测定方法

参照 Liu 等^[22]的方法, 进行适当修改。配置终浓度为 0.086 mol/L Tris、0.09 mol/L Gly 和 0.04 mol/L EDTA pH 值 8.0 的游离巯基缓冲液, 即缓冲液 A,

配置终浓度为 0.086 mol/L Tris、0.09 mol/L Gly、0.04 mol/L EDTA、8 mol/L 尿素和质量分数 0.5% SDS pH 值 8.0 的总巯基缓冲液, 即缓冲液 B。采用适量缓冲液处理样品, 室温振荡 1 h, 以离心力 5 000×g 离心 10 min, 回收上清液, 将 3 mL 上清液与 30 μL 10 mmol/L DTNB 溶液混匀, 于吸光度 412 nm 测吸光值, 以缓冲液替代样品作为空白对照。巯基含量计算公式如下:

$$B=73.53 \times D \times \frac{A_1-A_0}{c} \quad (3)$$

式中:

B —巯基含量, μmol/g;

A_1 —样品的吸光值;

A_0 —空白对照的吸光值;

D —稀释倍数;

c —样品质量浓度, mg/mL。

1.3.9.3 巯基含量的测定方法

参照 Levine 等^[23]的方法, 进行适当修改。将 1 mL 的样品溶液和 4 mL 的 10 mmol/L DNPH 于室温下振荡混匀, 并加入等体积的质量分数 20% (m/V) TCA 溶液, 11 000×g 离心 10 min, 回收沉淀; 将沉淀洗涤三次后添加 2 mL 6 mol/L 盐酸胍溶液, 于 50 °C 条件下保温 30 min, 11 000 g 离心 10 min, 获得上清液, 于吸光度 370 nm 处测得吸光值表征其巯基含量, 于吸光度 280 nm 处测得的吸光值表征其蛋白浓度, 用 6 mol/L 盐酸胍溶液配置不同浓度的牛血清白蛋白溶液, 于吸光度 280 nm 处测定吸光值, 得到蛋白浓度的标准曲线。以 1 mL 的样品溶液和 4 mL 的 2 mol/L HCl 混合液作为对照。巯基含量采用摩尔消光系数为 22 000 $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ 巯基含量计算公式如下:

$$X=10^6 \times V_1 \times \frac{A_1-A_0}{(\epsilon \times b) \times (c \times V_2)} \quad (4)$$

式中:

X —巯基含量, nmol/mg protein;

A_1 —10 mmol/L DNPH 处理的样品的吸光值;

A_0 —2 mol/L HCl 处理的样品的吸光值;

ϵ —蛋白质胍的摩尔消光系数;

b —比色皿的光学长度, cm;

V_1 —经 10 mmol/L DNPH 或 2 mol/L HCl 处理的样品的体积, mL;

c —蛋白质质量浓度, mg/mL;

V_2 —蛋白质溶液的体积, mL。

1.3.10 数据处理

每个数据均为三次测定的平均值, 采用 SPSS 26.0 统计分析软件分析实验数据, 采用均值 ± 标

准差 ($\bar{x} \pm SD$) 为表示方法, 不同样品间的差异采用 one-way ANOVA 进行分析, 并以 Duncans 多重比较法进行显著性差异的分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物的感官评价

由图 1 可知, 豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物 (PPIHM) 的风味较为丰富, 其鲜味和饱满感突出, 散发诱人的烤肉香和焦香, 但略带硫味。据报道, 糖类、肽、氨基酸、硫胺素和脂类物质等的降解, 以及此类物质之间发生的美拉德反应均可促使肉类香味物质的形成^[24]。Yan 等^[25]制备的豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物也具有强烈鲜味和浓厚味; 沈军卫^[26]以大豆脱脂蛋白为原料, 将酶解技术与美拉德反应相结合制备出具有浓郁猪肉肉香的产物; Wei 等^[27]利用亚麻籽蛋白酶解物制备的美拉德反应产物具有鸡肉风味; Chen 等^[28]也发现葵花籽、麸皮和玉米水解物的美拉德反应产物均具有增强鲜味的作用。本实验添加了谷胱甘肽进行美拉德反应, 其中半胱氨酸和甘氨酸均为美拉德反应产生肉香中较为关键的氨基酸, 当它们以肽形式参与反应, 更容易生成肉香化合物^[29]。可见本实验制得的 PPIHM 具有良好的鲜味和肉香, 是一种潜在的优秀肉味补偿剂。

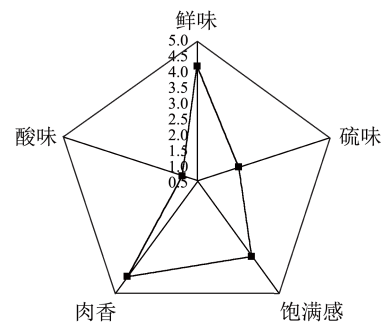


图 1 PPIHM 的感官评价

Fig.1 The sensory evaluation of PPIHM

2.2 豌豆酶解-美拉德反应产物的抗氧化活性

由表 2 可看出, PPIHM 的氧自由基吸收能力为 890.85 μmol TE/mg, DPPH 自由基清除能力的 IC_{50} 值为 1.52 mg/mL, 且还原力也较高 (ABS 为 0.30), 表明 PPIHM 具有较强的抗氧化活性, 该结果与其他科研工作者的研究结果类似, 如 Pownall 等^[30]采用木瓜蛋白酶/Alcalsae 制备的豌豆蛋白水解物的 IC_{50} 值在 1.00~3.00 mg/mL 之间; 周雪^[31]发现当豌豆肽

美拉德反应产物质量浓度为 0.9 mg/mL 时, 其 DPPH 自由基清除率高达 90%; 当质量浓度为 0.5 mg/mL 时, 其还原能力吸光度值约为 0.40; Eiserich 等^[32]发现美拉德反应产物中挥发性杂环化合物的双键对其抗氧化活性具有贡献作用; Liu 等^[33]也证明了大豆蛋白水解物美拉德反应产物中的杂环化合物对其还原能力表现出积极影响; 严方^[34]表明豌豆肽在美拉德反应过程中产生的挥发性含硫、氮、氧杂环化合物以及美拉德反应产物结构中存在的羟基基团, 均对产物的自由基清除能力和还原能力产生积极作用。此外, 美拉德反应生成的类黑精也被证明能够进一步提升其还原能力^[33]。由此可见, PPIHM 不仅具有改善食品风味的潜力, 其良好的抗氧化活性也为提高其附加值及拓展应用领域提供了有利依据。

表 2 PPIHM 的抗氧化活性

Table 2 Antioxidant activity of PPIHM			
样品	氧自由基 吸收能力	DPPH 自由基 清除能力	还原能力 (ABS)
	Trolox 当量 ($\mu\text{mol TE}/\text{mg}$)	IC ₅₀ 值 (mg/mL)	
PPIHM	890.85	1.52	0.30

2.3 植物肉的感官特性

本实验中, 设置添加质量分数 1% 食盐的植物肉为对照组, 添加质量分数 0.2% 食盐及不同质量分数的 PPIHM 的植物肉为低钠组 (钠含量远远低于对照组, PPIHM 的添加不会增加钠含量) 并对其进行感官评价。结果如图 2 所示, 感官品评人员对降低食盐和鲜味剂添加量的植物肉 (即低钠组 -1) 整体风味的接受度和喜好度明显低于对照组。随着 PPIHM 质量分数的增加, 感官品评人员感知到植物肉的肉香、鲜味和咸味的变得越来越强烈。然而, 当 PPIHM 质量分数大于 3% 时, 植物肉的接受度和喜好度反而降低, 这可能是由于 5% PPIHM 组中 PPIHM 本身的鲜味和咸味太强导致整体滋味失调。在肉制品中, 食盐是一种十分重要的调味品, 不仅提供咸味, 还能促进风味物质的形成, 因此减少食盐的质量分数往往会对食品风味造成不利影响, 从而降低消费者对食品接受度^[35]。此外, Harada-Padermo 等^[36]证明了味精复合香菇提取物作为增味剂、鲜味剂在低钠配方食品中作为风味补偿的有效性。詹欢^[37]发现鲜味氨基酸 (谷氨酸和天冬氨酸) 与钠盐发生结合, 不仅更容易激活鲜味感受

器, 还能够增加氯化钠溶液的味觉活性。因此, 本实验结果 (图 2) 表明 PPIHM 能够赋予植物肉明显的肉香, 并且呈现出明显的增咸提鲜效果, 可有效改善低钠植物肉的风味品质。

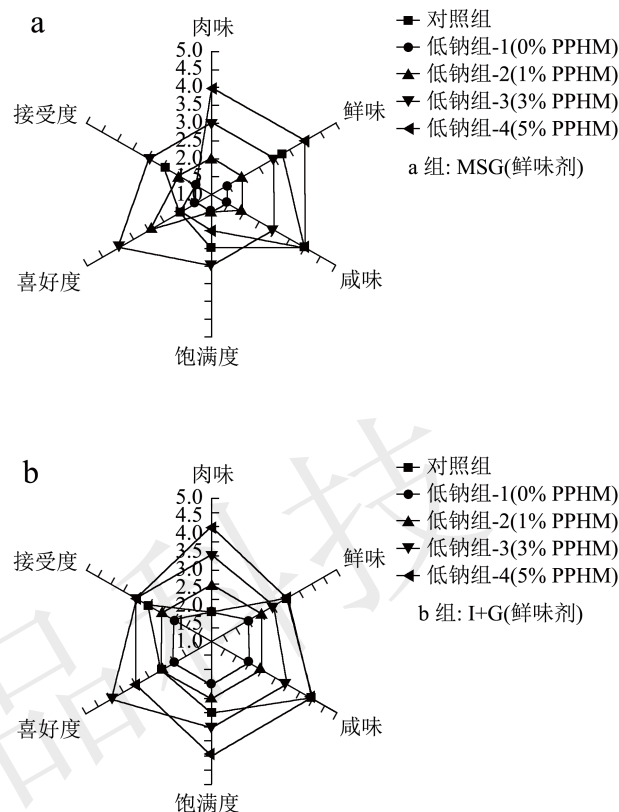


图 2 植物肉的 QDA 图

Fig.2 QDA diagram of plant-based meat

注: (a) 谷氨酸钠; (b) 呈味核苷酸二钠。

2.4 植物肉的结构特性

口感是指食物进入口腔内, 由触觉和咀嚼而产生的直接感受, 是独立于味觉之外的另一种感觉。肉制品的硬度、弹性、咀嚼性往往与其口感有关, 也是影响消费者选择产品的重要指标。通过质构分析中 TPA 测试对植物肉蛋白凝胶的硬度、弹性和咀嚼性进行测量, 其凝胶特性结果如图 3 所示, 流变特性结果如图 4 所示。整体上来看, PPIHM 质量分数越高, 植物肉的硬度、弹性和咀嚼性越低。进一步采用 TA-XT 2 质构分析仪的 MEC 咀嚼装置模拟人体口腔咀嚼来表现产品在咀嚼过程中的变化, 结果 (表 3) 发现实验样品经充分咀嚼后, 挤出所需功 W_{inf} 相差不大, 质量分数 1% PPIHM 植物肉组 W_{inf} 仅为 0.46, 即在咀嚼过程每次挤压后需要做的功相差不大, 与上述实验样品凝胶特性中咀嚼性相符合。植物肉的凝胶特性随着 PPIHM 质量分

数的增加而变差，这主要是因为本实验制备的植物肉以蛋白凝胶为主，而PPIHM多为小分子肽，难以为植物肉的凝胶提供大分子支撑。

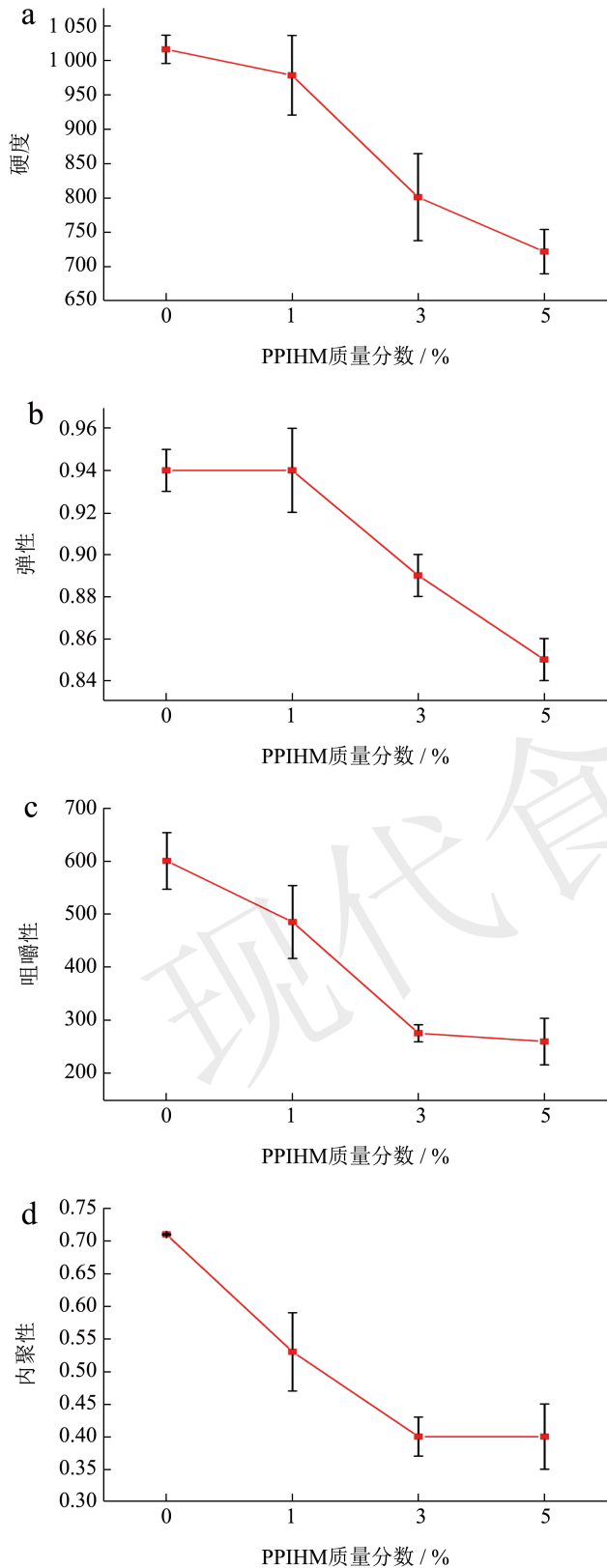


图3 植物肉的凝胶特性

Fig.3 Gel properties of plant-based meat

表3 植物肉的咀嚼特性

Table 3 Chewing characteristics of plant-based meat

PPIHM 质量分数 / %	W_{inf}/J	w_1/J	n_1
0	0.41±0.002	1.02±0.094	0.71±0.063
1	0.46±0.003	1.66±0.180	0.86±0.083
3	0.44±0.003	1.12±0.110	0.64±0.062
5	0.42±0.003	1.23±0.150	0.81±0.093

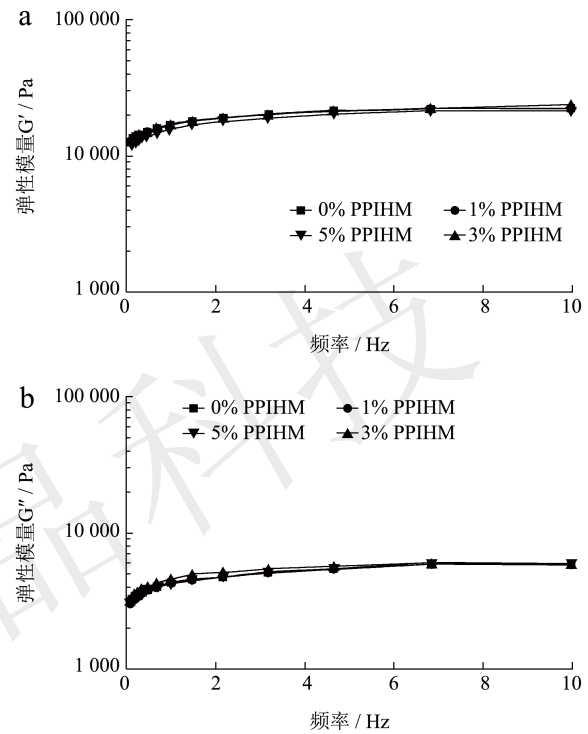


图4 植物肉的振荡频率扫描结果

Fig.4 Result of oscillation frequency sweep of plant-based meat

注: (a) 弹性模量; (b) 粘性模量。

由图4可知，不同实验样品之间的弹性模量和粘性模量差异不大；此外，振荡测量的相位角(δ)是应力与应变的相位差，理想弹性固体 δ 为 0° ，理想粘性液体 δ 为 90° ，粘弹体 δ 则处于 $0^\circ\sim 90^\circ$ 范围内，相位角正切值($\tan \delta$)可以表征其粘弹特性， $\tan \delta$ 越小，则弹性成分越占优势^[38]。本实验中所有样品的相位角正切值(数据未列出)均在0.20~0.30之间，说明植物肉中弹性成分占优势。可见，PPIHM的加入对植物肉稳定性无显著影响。

2.5 豌豆蛋白酶解-美拉德反应产物对植物肉储藏特性的影响

2.5.1 植物肉的抗氧化活性

考虑到PPIHM具有较好的抗氧化活性，将PPIHM应用于植物肉中可能会提高其抗氧化活性，

抑制其油脂氧化和蛋白氧化,从而起到提高植物肉安全品质的效果。本实验测定了添加 PPIHM 的植物肉的抗氧化活性,结果如图 5 所示, PPIHM 能显著提高植物肉的抗氧化能力,随着 PPIHM 质量分数的增加,对应植物肉的氧自由基吸收能力、DPPH 自由基清除能力和还原力均得到进一步的增强。其中,质量分数 5% PPIHM 的 DPPH 自由基清除能力从 30.65% 增加到 65.62%,氧自由基清除能力从 58.81 $\mu\text{L TE/g}$ 增加到 167.09 $\mu\text{L TE/g}$ 。基于有学者^[37]提出来自豌豆分离蛋白的高抗氧化性肽有益于食物的储藏及运输,本实验将进一步研究添加 PPIHM 对植物肉储藏过程中油脂氧化和蛋白氧化的影响。

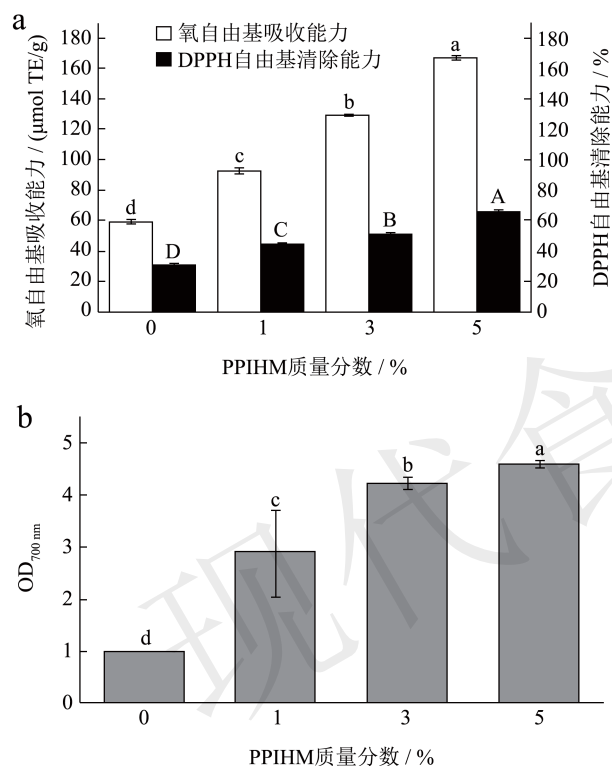


图 5 植物肉的抗氧化活性

Fig.5 Antioxidant activity of plant-based meat

注: 相同指标标注不同角标者具有显著性差异, $P < 0.05$ 。

2.5.2 植物肉的油脂和蛋白氧化程度

本实验主要通过评估添加植物肉的油脂氧化和蛋白氧化程度,来考察 PPIHM 对植物肉储藏特性的影响。由于油脂在储藏过程中会受到光、热、水分、微生物以及油脂中杂质的影响,甚至造成油脂酸败,因此测定油脂的过氧化值是评价油脂初始氧化程度的有效方法之一^[39]。由图 6a 可知,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,所有植物肉样品的 POV 值在 12 d 储藏期内均不断增加。由菜籽油标准 GB/T 1536-2021^[40]可知,一级

压榨菜籽油的过氧化值不大于 0.13 g/100 g,二级压榨菜籽油的过氧化值不大于 0.25 g/100 g。植物肉储藏到第 9 天,空白对照组 (0% PPIHM 组) 的 POV 值达 0.20 g/100 g,储藏到第 12 天,其 POV 值达 0.25 g/100 g。然而,所有添加 PPIHM 植物肉的 POV 值仍小于 0.20 g/100 g,其中 5% (质量分数) PPIHM 组在第 12 天时,POV 值仅为 0.01 g/100 g。PPIHM 能有效抑制植物肉中油脂的氧化程度,有利于植物肉的保存。

蛋白质中半胱氨酸硫醇的氧化会促进分子间二硫键的形成,使得蛋白质中巯基减少,因此巯基含量是反映蛋白质氧化程度的重要指标之一^[41]。通过测定植物肉中蛋白质氧化程度 (图 6b、6c) 发现,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下储藏 12 d,所有植物肉样品的巯基含量均随着时间的延长而下降。然而,在储藏第 1 天时,含 0% PPIHM、1% PPIHM、3% PPIHM 和 5% PPIHM (质量分数) 植物肉蛋白质的游离巯基含量下降程度分别为 3.51%、2.20%、2.90%、2.10% 和 1.13%,总巯基下降程度分别为 14.13%、8.15%、13.31%、11.66% 和 7.50%,可见在储藏初始阶段 5% (质量分数) PPIHM 能有效抑制巯基的氧化,且添加 PPIHM 的植物肉 (1% PPIHM、3% PPIHM 和 5% PPIHM 组) 在整个贮藏期间巯基含量的下降程度均低于空白对照组,说明 PPIHM 能有效抑制植物肉中巯基氧化形成二硫键。这与王俊^[42]在研究大豆肽抑制肉丸中巯基氧化形成次磺酸、亚磺酸和二硫交联物等氧化物质的结果相似。另外,蛋白质氧化会引起氨基酸的修饰,其中蛋白质的羰基化涉及到赖氨酸、苏氨酸和精氨酸等必需氨基酸,因此羰基含量是反应蛋白质氧化程度的重要指标之一^[43]。在储藏期间,植物肉的羰基含量变化如图 6d 所示。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下储藏 12 d,样品的羰基含量随着时间的延长而上升。添加 0% PPIHM、1% PPIHM、3% PPIHM 和 5% PPIHM (质量分数) 的植物肉初始羰基含量分别为 1.61、1.40、1.20、1.20、1.00 nmol/mg,即在储藏刚开始时,1% PPIHM 即能显著抑制植物肉中蛋白质的初始氧化。在整个储藏期内,添加 PPIHM 的植物肉的羰基含量显著低于对照空白组,说明 PPIHM 可显著抑制植物肉中羰基化合物的形成。冷藏结束时,质量分数为 0% PPIHM、1% PPIHM、3% PPIHM 和 5% PPIHM 植物肉的羰基含量分别为 5.36、3.01、2.65、2.47、1.78 nmol/mg,由此可见 PPIHM 能有效抑制植物肉中蛋白质的羰基化,与张焯等^[44]研究藤茶提取物对素肉丸储藏稳定性结果类似。综上所述,PPIHM 能够赋予植物肉更高的

抗氧化活性, 具有延缓植物肉油脂和蛋白氧化程度的能力。

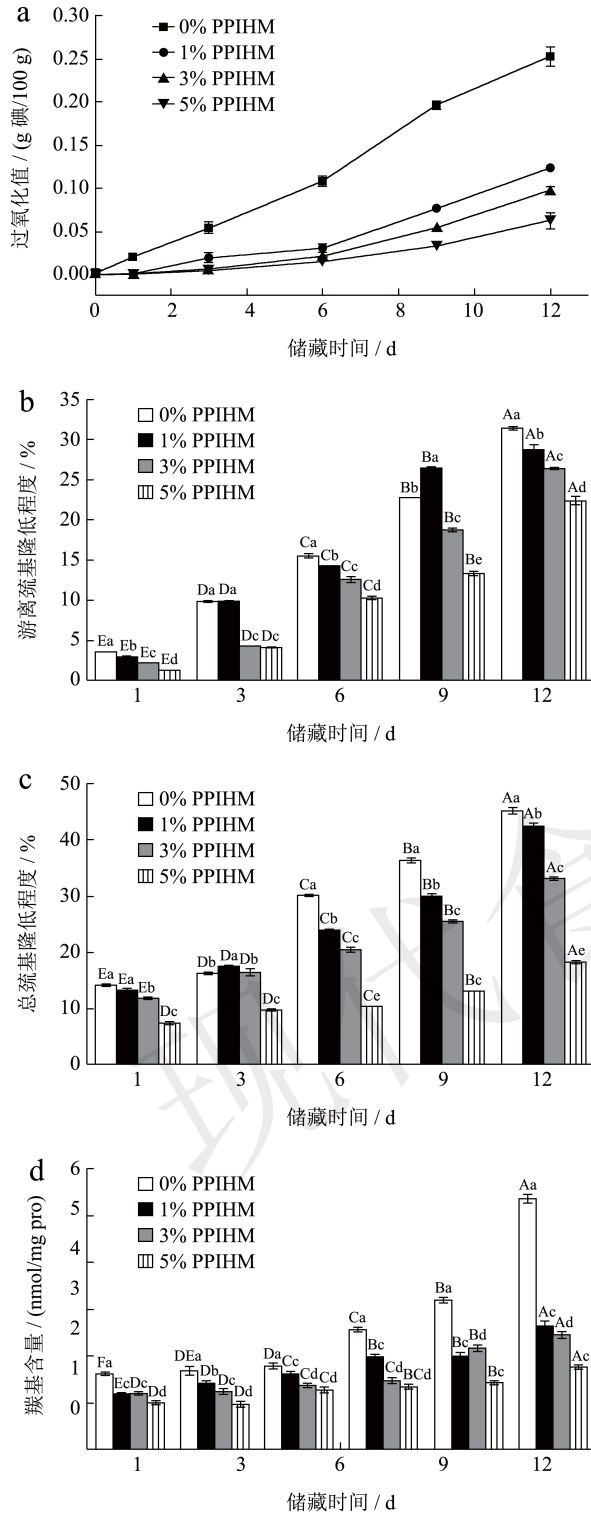


图6 PPIHM对植物肉在冷藏期间POV值(a)、巯基(b: 游离巯基, c: 总巯基)和羰基含量(d)的影响
Fig.6 Effect of PPIHM on POV value (a) sulfhydryl content and of plant-based meat during cold storage (b: free sulfhydryl, c: total sulfhydryl) and carbonyl content (d)

注: 相同指标标注不同角标者具有显著性差异, $P < 0.05$ 。

3 结论

本文基于风味特性、结构特性和储藏稳定性, 考察了PPIHM对植物肉品质的影响。结果表明PPIHM具有良好的增咸提鲜, 补偿肉味的作用。添加PPIHM能显著提高植物肉的风味品质, 感官品评人员能从质量分数为1% PPIHM的植物肉中感受到肉感, 且添加PPIHM对低钠植物肉有较好的增鲜增咸效果; 但PPIHM质量分数大于3% (质量分数) 时, 会明显降低感官品评人员对植物肉的接受度和喜好度。PPIHM对植物肉的刚性和稳定性无显著影响, 但能通过延缓植物肉中油脂和蛋白的氧化程度延缓其腐败。在初始阶段, 质量分数5% PPIHM能有效抑制巯基的氧化, 质量分数1%的PPIHM就能显著抑制植物肉中蛋白质的初始氧化, 且随着PPIHM质量分数的提升, 其抗氧化效果越好, 更有利于植物肉的储藏。本文通过对PPIHM在植物肉中应用探究, 发现其是一种具有良好应用潜力的植物肉风味补偿剂, 为其在食品工业中推广应用提供了理论依据和方法指导。

参考文献

- [1] WILLETT W, ROCKSTROM J, LOKEN B, et al. Food in the anthropocene: The EAT-Lancet commission on healthy diets from sustainable food systems [J]. Lancet, 2019, 393(10170): 447-492.
- [2] BROWN I J, TZOULAKI I, CANDEIAS V, et al. Salt intakes around the world: implications for public health [J]. International Journal of Epidemiology, 2009, 38(3): 791-813.
- [3] CLAYTON E, SPECHT E A, WELCH D R, et al. Addressing Global Protein Demand through Diversification and Innovation [M]. Reference Module in Food Science, 2018.
- [4] HARADA-PADERMO S, DIAS-FACETO L S, SELANI M M, et al. Umami Ingredient, a newly developed flavor enhancer from shiitake byproducts, in low-sodium products: A study case of application in corn extruded snacks [J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 138(5): 110806.
- [5] 申海鹏. 咸味香精、呈味基料的发展与创新 [J]. 食品安全导刊, 2015, 28: 60-61.
- [6] 白卫东, 钱敏, 刘果. 咸味香精的研究进展 [C] // 广东省食品学会. “科技创新与食品产业可持续发展”学术研讨会暨2008年广东省食品学会年会论文集, 2008: 100-103.
- [7] SUN F, CUI H, ZHAN H, et al. Aqueous preparation of maillard reaction intermediate from glutathione and xylose and its volatile formation during thermal treatment [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(12): 3584-3593.

- [8] ERIC K, RAYMOND L V, HUANG M, et al. Sensory attributes and antioxidant capacity of Maillard reaction products derived from xylose, cysteine and sunflower protein hydrolysate model system [J]. Food Research International, 2013, 54(2): 1437-1447.
- [9] CAI L, LI D, DONG Z, et al. Change regularity of the characteristics of Maillard reaction products derived from xylose and Chinese shrimp waste hydrolysates [J]. Lwt-Food Science and Technology, 2016, 65: 908-916.
- [10] DOS SANTOS B A, BASTIANELLO CAMPAGNOL P C, MORGANO M A, et al. Monosodium glutamate, disodium inosinate, disodium guanylate, lysine and taurine improve the sensory quality of fermented cooked sausages with 50% and 75% replacement of NaCl with KCl [J]. Meat Science, 2014, 96(1): 509-513.
- [11] CAMPAGNOL P, SANTOS B, MORGANO M A, et al. Application of lysine, taurine, disodium inosinate and disodium guanylate in fermented cooked sausages with 50% replacement of NaCl by KCl [J]. Meat Science, 2011, 87(3): 239-243.
- [12] BOUKID F, ROSELL C M, CASTELLARI M. Pea protein ingredients: A mainstream ingredient to (re)formulate innovative foods and beverages [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 729-742.
- [13] LU Z X, HE J F, ZHANG Y C, et al. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(15): 2593-2605.
- [14] 中华人民共和国农业部(2012).GB/T 16291.1-2012,感官分析选拔、培训与管理评价员一般导则 第1部分:优选评价员[S].
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会(2008).GB/T 12315-2008,感官分析方法学排序法[S].
- [16] DÁVALOS A, GÓMEZ-CORDOVÉS C, BARTOLOMÉ B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(1): 48-54.
- [17] ZHENG L, ZHAO Y, DONG H, et al. Structure-activity relationship of antioxidant dipeptides: Dominant role of Tyr, Trp, Cys and Met residues [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 21: 485-496.
- [18] MENDISE, RAJAPAKSE N, BYUN H G, et al. Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their *in vitro* antioxidant effects [J]. Life Sciences, 2005, 77(17): 2166-2178.
- [19] AHMADI F, KADIVAR M, SHAHEDI M. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems [J]. Food Chemistry, 2007, 105(1): 57-64.
- [20] 邝婉涓.流变学分析在搅打奶油品质评价中的应用[D].广州:华南理工大学,2014.
- [21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.GB 5009.227-2016,食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定[S].
- [22] LIU G, XIONG Y L, BUTTERFIELD D A. Chemical, physical, and gel-forming properties of oxidized myofibrils and whey-and soy-protein isolates [J]. Journal of Food Science, 2000, 65(5): 811-818.
- [23] LEVINER L, GARLAND D, OLIVER C N, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins [J]. Methods in Enzymology, 1990, 186: 464-478.
- [24] LINDA J FARMER, MOTTRAM DONALD S. Interaction of lipid in the maillard reaction between cysteine and ribose: the effect of a triglyceride and three phospholipids on the volatile products [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2010, 53(4): 505-525.
- [25] YAN F, CUI H, ZHANG Q, et al. Small peptides hydrolyzed from pea protein and their maillard reaction products as taste modifiers: saltiness, umami, and kokumi enhancement [J]. Food and Bioprocess Technology, 2021, 14(6): 1132-1141.
- [26] 沈军卫.大豆蛋白酶解物制备猪肉香精的研究[D].洛阳:河南科技大学,2010.
- [27] WEI C K, NI Z J, THAKUR K, et al. Aromatic effects of immobilized enzymatic oxidation of chicken fat on flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) derived Maillard reaction products [J]. Food Chemistry, 2020, 306: 125560.
- [28] CHEN H, CUI H, ZHANG M, et al. Improving the flavor and oxidation resistance of processed sunflower seeds with maillard peptides [J]. Food and Bioprocess Technology, 2019, 12(5): 809-819.
- [29] ZHAO J, WANG T Z, XIE J C, et al. Meat flavor generation from different composition patterns of initial Maillard stage intermediates formed in heated cysteine-xylose-glycine reaction systems [J]. Food Chemistry, 2019, 274: 79-88.
- [30] POWNALL TRISHA L, UDENIGWE CHIBUIKE C, ALUKO ROTIMI E. Amino acid composition and antioxidant properties of pea seed (*Pisum sativum* L.) enzymatic protein hydrolysate fractions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(8): 4712-4718.
- [31] 周雪.减盐增鲜豌豆肽美拉德中间体制备及加工风味受控形成[D].无锡:江南大学,2021.
- [32] EISERICH J P, MACKU C, SHIBAMOTO T. Volatile antioxidants formed from an L-cysteine/D-glucose Mallard model system [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1992, 40(10): 1982-1988.
- [33] LIU P, HUANG M, SONG S, et al. Sensory characteristics

- and antioxidant activities of Maillard reaction products from soy protein hydrolysates with different molecular weight distribution [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2012, 5(5): 1775-1789.
- [34] 严方. 豌豆蛋白美拉德肽制备及其呈味特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
- [35] 李永杰, 唐月, 李慧瑶, 等. 基于智能感官和气相色谱-质谱联用技术研究食盐添加量对风干肠风味特征的影响[J]. *食品科学*, 2022, 43(4): 1-7.
- [36] HARADA-PADERMO S, DIAS-FACETO L S, SELANI M M., et al. Umami ingredient, a newly developed flavor enhancer from shiitake byproducts, in low-sodium products: a study case of application in corn extruded snacks [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 138(5): 110806.
- [37] 詹欢. 美拉德反应中间体-酶解氧化鸡脂协同构建鸡汤风味前体[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- [38] AWOSIKA T, ALUKO R E. Enzymatic pea protein hydrolysates are active trypsin and chymotrypsin inhibitors [J]. *Foods*, 2019, 8(6): 200.
- [39] LU Z X, HE J F, ZHANG Y C, et al. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 60(1): 1-13.
- [40] 武汉轻工大学, 国家粮食和物资储备局标准质量中心, 国家粮食和物资储备局科学研究院, 等. 菜籽油[Z]. 国家市场监督管理总局; 国家标准化管理委员会, 2021: 12.
- [41] DAVIES M J. Protein oxidation and peroxidation [J]. *Biochemical Journal*, 2016, 473(7): 805-825.
- [42] 王俊. 豆粕固体发酵—酶解特性研究及产物应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [43] GRUNE T, CATALGOL B, JUNG T. Protein Oxidation and Aging [M]. John Wiley & Sons, 2012.
- [44] 张焯, 徐玉, 薛海, 等. 藤茶提取物对素肉丸冷藏期间脂质和蛋白质氧化的抗氧化活性影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(3): 212-217.